Aus der Chirurgischen Klinik
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. Werner W a c h s m u t h.

DURCH ULTRAVIOLETTBESTRAHLUNG BEDINGTE VERÄNDERUNGEN DES KONSERVENBLUTES, UNTERSUCHT AM BLUTBILD, DER OSMOTISCHEN RESISTENZ, DEM PLASMAKALIUMSPIEGEL UND DER ERYTHROZYTENZAHL.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität

Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Karl-Heinz V ö l k e l

aus

Ratibor.

Würzburg 1954

Aus der Chirurgischen Klinik
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. Werner W a c h s m u t h

DURCH ULTRAVIOLETTBESTRAHLUNG BEDINGTE VERÄNDERUNGEN DES KONSERVENBLUTES, UNTERSUCHT AM BLUTBILD, DER OSMOTISCHEN RESISTENZ, DEM PLASMAKALIUMSPIEGEL UND DER ERYTHROZYTENZAHL.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität

Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Karl-Heinz V ö l k e l

aus

Ratibor.

Würzburg 1954

Referent: Priv.Dozent Dr.med.F. H o l l e
Korreferent: Professor Dr.med.W. W a c h s m u t h

Tag der mündl. Prüfung:

2 4. Sep. 1954

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Meinen lieben Eltern

Durch Ultraviolettbestrahlung bedingte Veränderungen des Konservenblutes, untersucht am Blutbild, der osmotischen Resistenz, dem Plasmakaliumspiegel und der Erythrozytenzahl.

Die Entwicklung der modernen Strahlentherapie hat, aufbauend auf den Erfahrungen der Bluttransfusion, den Anlaß zu neuen Versuchen über die Physiologie des Blutes, insbesondere seiner biologischen Aktivität gegeben.

In Deutschland stellte G. KULENKAMPFF 1936 erstmalig fest, daß die Ultraviolettbestrahlung von Eigenblut keine Giftwirkung im Organismus hervorruft. Nach seinen Untersuchungen hat das ultraviolettbestrahlte Blut sogar wichtige therapeutische Unterschiede gegenüber dem nicht bestrahlten, die er in folgenden Punkten zusammenfaßt:

1) schmerzstillende Wirkung (bei Arthritis deformans und Magenulcus),
2) gute Beeinflussung septischer Erkrankungen,
3) gute Beeinflussung von Neuralgien,
4) besonders gute Beeinflussung von allergisch bedingten Hautkrankheiten.

KULENKAMPFF injizierte zweimal in der Woche 10 ccm Blut mit allmählich gesteigerter Bestrahlungszeit von 1 bis 3 Minuten. Die Bestrahlung erfolgte mit einer Bactophoslampe.

Genauere Untersuchungen über die bakterizide Kraft des bestrahlten Blutes unternahmen H. SHITA und T. NAKASHIMA 1941 an der medizinischen Akademie in Kioto. Sie stellten nach der Bestrahlung ein deutliches Ansteigen der bakteriziden Kraft des Blutes fest, die nach 3 bis 6 Stunden ihren Höhepunkt erreichte. Nach 24 Stunden war die Bakterizidie des Blutes wieder normal. Bei Anwendung von Diathermie war nur ein vorübergehender Anstieg zu beobachten. Daraus schlossen die Verfasser, daß bei dem Anstieg der bakteriziden Kraft des Blutes unter der Wirkung der Kurzwellenbestrahlung die Wärmebildung eine besondere Rolle spiele. Nähere Angaben über Untersuchungen und Bestrahlungsdauer fehlen leider.

Im ausländischen Schrifttum, das nach dem Kriege zugänglich wurde, fand sich eine 1948 erschienene Übersicht von E. KNOTT über die Entwicklung von Ultraviolettbestrahlung des Blutes. KNOTT und EDBLOM bestrahlten Blut in einer zu diesem Zweck konstruierten Bestrahlungskammer, die aus einem runden Glasgefäß bestand, das mit einem Quarzglas bedeckt und in das ein Labyrinthsystem eingebaut war. Dabei prüften sie die Erythrozytenempfindlichkeit des Zitratblutes bei Wellenlängen von 2399 bis 3654 AE während 0 bis 280 Sekunden mit Expositionsintervallen von 5 bis 10 Sekunden. Nach jedem Intervall wurden Blutproben mikroskopisch untersucht. Bestrahlungen bis zu 70 Sekunden riefen keine morphologischen Veränderungen an den Erythrozyten hervor. Bei 70 bis 280 Sekunden fand sich eine leichte Poikilozytose. Bestrahlungen über 280 Sekunden führten zur Hämolyse.

Nachdem die Verfasser die Veränderungen der korpuskulären Bestandteile des Blutes untersucht hatten, bestimmten sie die bakterizide Kraft des bestrahlten Blutes. Die Versuche mit Zitratblut, das mit Staphylokokkus aureus infiziert wurde, ergaben, daß nach 10 Sekunden Bestrahlung kein Bakterienwachstum mehr eintrat.

Ausgehend von diesen Grundversuchen wandten die Verfasser ultraviolettbestrahltes Blut im Tierversuch an. Schon vorher hatten STOLFI und PROVENZALE durch Transfusion von homologem, mit Ultraviolett bestrahlten Blut bei Kaninchen, die mit Staphylokokken infiziert waren, eine Verlängerung der Lebensdauer um 17 % im Vergleich zu solchen Kaninchen erzielt, die eine Transfusion von normalem Blut erhalten hatten.

KNOTT und EDBLOM infizierten Hunde mit großen Dosen von Staphylokokkus aureus und hämolytischen Streptokokken bekannter Virulenz. Das Blut einiger Hunde wurde in einer Kammer bestrahlt, die zwischen zwei Venen eingeschaltet wurde. Das Durchpumpen des Blutstromes erfolgte mit Hilfe einer LUER-Spritze unter Verwendung eines Dreiwegehahnes. Sowohl die Tiere, deren Blut bestrahlt worden war, als auch die anderen starben am 5. bis 7. Tag unter fortschrei-

tender Atmungsinsuffizienz und Depressionen. Bei den ersteren war jedoch die Blutkultur negativ.

Den Tod der behandelten Tiere versuchten die Verfasser durch Teilbestrahlungen von 1/60 bis 1/20 der Blutmenge mit hohen Dosen zu verhindern. Die Teilbestrahlungen genügten, eine Septikämie zu verhüten. Diese Tiere erholten sich völlig, während die anderen an Septikämie zu Grunde gingen.

1928 wurde diese Blutbestrahlungstherapie das erste Mal bei einer moribunden Patientin mit hämolytischer Streptokokkenseptikämie nach Abortus mit dem Erfolg völliger Heilung angewandt.

HANOCK und TATE MASON wandten, wie KNOTT berichtet, dasselbe Verfahren bei weiteren Fällen von Streptokokkenseptikämie an. Die schweren, mit Leukopenie einhergehenden Infekte zeigten klinische Besserung mit Leukozyten- und Erythrozytenzunahme.

Die Wirkung dieser Therapie bei 75 Fällen von Pneumonie zeigte sich durch raschen Temperaturabfall, Verschwinden der Cyanose, Pulsverlangsamung und Abkürzung der Behandlungsdauer.

Die Verfasser fassen die Wirkung in folgenden Punkten zusammen:

1) Steigerung des Sauerstoffbindungsvermögens,
2) Erhöhung des opsonischen Indexes,
3) Entgiftung,
4) bessere Kapillardurchblutung,
5) günstige Wirkung auf die Redoxsysteme.

Überbestrahlung zerstört die Polymorphkernigen.

Schon 1937 hatten FILATOW und KASUMOW bei Patienten, die an Anämie, septischen Prozessen, langwierigen und trophischen Geschwüren, Furunkulose etc. erkrankt waren, 20 bis 50 ccm ultraviolettbestrahltes Blut transfundiert. Von 20 Kranken war das Resultat bei sechs gut, bei acht befriedigend. Bei weiteren sechs Patienten wurde keine Wirkung erzielt. Zur Kontrolle wurden gleichzeitig sechs anämische Kranke mit den gleichen Mengen unbestrahlten Blutes behandelt. Obwohl das bestrahlte Blut eine offensichtlich günstigere Wirkung zeigte,

hielt diese Therapie doch nicht im vollen Umfange das, was sich die Verfasser von ihr versprochen hatten.

Über die Entwicklung in Deutschland auf diesem Forschungsgebiet nach den Untersuchungen von G. KULENKAMPFF berichtet HELMUT PRZEMECK. Danach wies PRANTER 1941 die Unschädlichkeit der direkten Blutbestrahlung nach. Außerdem entdeckte er eine entgiftende Wirkung nach Narkosen und eine Heilungstendenz bei Leukämia lymphatica.

PRZEMECK unterscheidet zwei Wirkungen der Ultravioletttbestrahlung:

1) direkte Veränderungen des bestrahlten Blutes,
2) reaktive Wirkung des bestrahlten Blutes auf den Gesamtorganismus.

Es tritt eine Zunahme der Reticulozyten und eine Vermehrung der Alkalireserve ein, wie es GRUMKE, FROMMELT und WOSYKA feststellen konnten. BUNGENBERG beobachtete beim Meerschweinchen das Auftreten einer Leukozytose. Nach LEITER ist die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit nicht eindeutig verändert. GIAUME fand eine zerstörende Wirkung auf Vitamin C, eine fördernde auf Vitamin D. Der Blutkalkspiegel soll nach BROCKMÜLLER erhöht sein, und nach SEYDERHELM wird eine anämische Substanz aktiviert.

Faßt man die E r g e b n i s s e der beschriebenen Untersuchungen im wesentlichen zusammen, dann kann man folgendes sagen:

Da die biologisch sehr aktiven Ultravioletttstrahlen sofort in der Haut absorbiert werden und daher nicht tief ins Gewebe eindringen können, kamen die ersten Untersucher dieses Forschungsgebietes auf den Gedanken, das Blut zu bestrahlen, um auf diese Weise die biologische Aktivität der Ultravioletttstrahlen ins Körperinnere zu tragen. Die Ultravioletttstrahlen wirken primär verändernd auf das Blut (PRZEMECK) und damit durch die Veränderungen des Blutes sekundär auf den Organismus. Man kann sich aber auch eine primäre Wirkung der Strahlen auf den Organismus im Sinne einer kurz andauernden induzierten Sekundärstrahlung denken. HANCOCK konnte diese induzierte Sekundärstrahlung nachweisen, indem er bestrahltes

Blut in einen Quarztrog füllte und diesen mit einem ultraviolettempfindlichen Film bedeckte. Es trat eine Schwärzung des Filmes ein.

Bestand die wesentliche Wirkung der Ultraviolettstrahlen in der Haut in einer Umwandlung des Ergosterins in das Vitamin D und einer Bräunung der Haut, so war die Wirkung des ultraviolettbestrahlten Blutes im Organismus sehr vielseitig.

Sowohl im Tierversuch als auch in der Anwendung beim Patienten zeigten sich besonders auffallend die bakteriziden Eigenschaften des bestrahlten Blutes bei Infektionen mit Strepto- und Staphylokokken.

Neben der guten Beeinflussung septischer Erkrankungen stellte KULENKAMPFF eine schmerzstillende Wirkung und einen Einfluß auf Neuralgien und allergisch bedingte Hautkrankheiten fest. Schöne Erfolge erzielten HANOCK und MASON bei Pneumonien, während PRANTER eine Heilungstendenz bei Leukämia lymphatica beobachten konnte.

Eine dankbare Indikation zur Therapie mit ultraviolettbestrahltem Blut verspricht nach den Untersuchungen von GEORGE MILEY die Poliomyelitis anterior zu werden. Abschließendes kann darüber noch nicht gesagt werden.

Über die Wirkungsweise des bestrahlten Blutes im Organismus berichteten - wie oben schon beschrieben - HANOCK und TATE MASON. Sie rechnen mit folgenden Vorgängen im Organismus: 1) Erhöhung der Sauerstoffbindungsfähigkeit, 2) Erhöhung des opsonischen Indexes, 3) Entgiftung, 4) bessere Kapillardurchblutung, 5) günstige Wirkung auf die Redoxsysteme. Aller Wahrscheinlichkeit nach liegt der Hauptangriffspunkt im RES.

Die Behandlung mit bestrahltem Blut wurde bisher stets mit Frischblut ausgeführt. Nachdem sich heute alle größeren Kliniken auf Konservenblut umgestellt haben, tauchte in der Würzburger Chirurgischen Universitätsklinik die Frage auf, ob auch das konservierte Blut, dessen biologischer Wert mit dem Alter der Konserve langsam, aber stetig abnimmt, nach Ultraviolettbestrahlung die gleichen therapeutischen Erfolge zeigt wie das ultraviolettbestrahlte Frischblut. Diese Arbeit hat

aber lediglich die Veränderung des Konservenblutes durch Ultraviolettbestrahlung zum Gegenstand, ohne daß therapeutische Konsequenzen daraus gezogen werden.

Als Kriterium für den biologischen Wert des ultraviolettbestrahlten Konservenblutes wurde das Blutbild, die osmotische Resistenz, der Plasmakaliumspiegel und die Erythrozytenzahl untersucht.

Ultraviolette Strahlen werden von gewöhnlichem Glas absorbiert. Daher wurde zur Blutbestrahlung eine strahlendurchlässige Quarzglasspirale verwendet, die die Quarzlampengesellschaft m.b.H. Hanau zur Blutbestrahlung herstellt. Um gleichbleibende Bestrahlungsbedingungen zu gewährleisten, stellt die gleiche Firma eine Bestrahlungskammer her, in die die Spirale eingeschraubt werden kann.

Der Abstand der Strahlenquelle von der gefüllten Spirale betrug bei jeder Bestrahlung stets 30 cm. Ein Hohlspiegel am Boden der Bestrahlungskammer verstärkt die Strahlenwirkung durch Reflexion. In der Spirale konnten 20 ccm Blut der Bestrahlung ausgesetzt werden. Um Luftblasen zu vermeiden, wurde die Spirale vorher mit steriler physiologischer Kochsalzlösung gefüllt und diese dann durch das Konservenblut verdrängt.

Es wurde Konservenblut im Alter von 1 bis 4 Wochen untersucht, das 1,5 bis 18 Minuten lang bestrahlt wurde. Da nach 6 Minuten Bestrahlung eine mäßige Erwärmung der Spirale auftrat, wurde, um Fehlerquellen zu vermeiden, die Bestrahlung nach jeden 6 Minuten 6 Minuten lang unterbrochen und in dieser Zeit die Spirale durch Auflegen eines feuchten Tuches gekühlt.

A. Das Blutbild

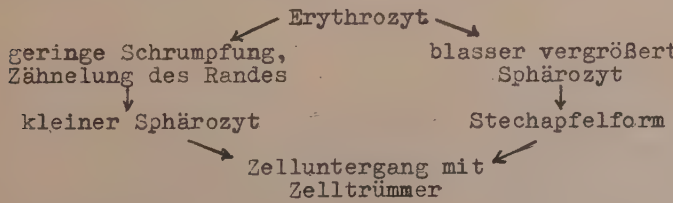
Die Veränderungen der Formelemente im konservierten, unbestrahlten Blut sind schon häufig Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen. Darüber, insbesondere über die Untersuchungen von JULLIEN-VIEROZ, VLADOS und BAGDASAROV berichten SCHÜRCH, WILLENEGGER und KNOLL in ihrem Buch über Blutkonservierung und Transfusion von konserviertem Blut. Sie fassen

die Ergebnisse folgendermaßen zusammen:

Nach einer gewissen Zeit, die bei jedem Stabilisator verschieden ist, ist besonders der ältere Erythrozyt degenerativen Veränderungen unterworfen. Als auffälligste Veränderung im konservierten Blut erweist sich die Schrumpfung der Erythrozyten, die sich in einer Verkürzung des Durchmessers, also einer Verlagerung der Price-Jones-Kurve nach links, einer Volumenabnahme, der Zähnelung des Randes und einer Entrundung zeigt. Die Schrumpfung geht in der Form weiter, daß aus den eben beschriebenen Formen, die im Querschnitt noch annähernd die Scheibenform des normalen Erythrozyten zeigen, sich Sphärozyten entwickeln. Die Erythrozyten nehmen Kugelform an. Die zentrale Delle ist nicht mehr nachweisbar, und im Nativpräparat finden sich keine Formen im Querschnitt. Da der Durchmesser dieser Sphärozyten erheblich variiert, nimmt man an, daß die Erythrozyten immer kleiner werden, bis die Zelle völlig untergeht.

Der eben beschriebene Verlauf ist die eine Art der Erythrozytendegeneration. Bei den Untersuchungen fand man jedoch auch deutlich vergrößerte Erythrozyten, die kugelig und etwas abgeblaßt waren. Auch diese Formen verfallen später ebenfalls dem Schrumpfungsprozeß. Da sie im Gegensatz zu den ersten Formen des eben beschriebenen Degenerationsverlaufes anfangs Kugelgestalt haben, bekommen sie bei Einsetzen der Schrumpfung sofort auf ihrer ganzen Oberfläche stechapfelförmiges Aussehen. Auch hier führt die Schrumpfung zu immer kleiner werdenden Formen bis zum völligen Untergang der Zelle.

Der Degenerationsverlauf der Erythrozyten läßt sich im folgenden Schema übersichtlich darstellen:



Jugendliche Erythrozyten können diesem Schrumpfungsprozeß länger widerstehen als ältere. Außerdem ist das zeitliche Auftreten der Schrumpfung je nach Art des Stabilisators verschieden. Nach dem Erhaltungsgrad der Erythrozyten wird auch die Brauchbarkeit des Blutes beurteilt. Die Untersuchung der Erythrozyten soll möglichst im Nativpräparat erfolgen, weil jeder Milieuwechsel die Schrumpfung des geschädigten Erythrozyten stark erhöhen würde.

Nach KNOTT beruhen sämtliche Formveränderungen auf komplizierten Permeabilitätsveränderungen. Diese Vorgänge in der Erythrozytenmembran haben Salzaustausch, osmotische Schrumpfung oder Schwellung und Hämoglobinaustritt zur Folge.

Eine geringe Schrumpfung setzt bereits durch den Kaliumaustritt, der sehr bald erfolgt, ein, wobei allerdings die Membran für die Außenkationen noch nicht durchlässig sein darf.

Eine Vergrößerung der Zelle erfolgt, wenn die Membran für Außenkationen durchlässig geworden ist. Diese osmotische Schwellung erfolgt bis zu einem kritischen Punkt, an dem der Hämoglobinaustritt einsetzt. Dieser Austritt des Hämoglobins führt zu großen Schrumpfungsprozessen im Erythrozyten, beträgt doch der Anteil des Hämoglobins 80 % der Trockensubstanz.

Wesentlich schneller als das rote verändert sich in der Konserve das weiße Blutbild. Die Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen nimmt rasch ab. Nach einer Woche findet man bereits keine Polymorphkernigen mehr, die Monozyten sollen etwas resistenter sein. Am längsten bleiben die Lymphozyten erhalten und davon die kleinen besser als die großen.

Nach TZANCK und DREYFUSS sollen sämtliche weißen Blutkörperchen in folgender Reihenfolge degenerieren:

1) Verkleinerung,
2) Kernpyknose,
3) Platzen der Zelle.

Die morphologischen Untersuchungen des mit Ultraviolett bestrahlten Blutes wurden sowohl am Nativpräparat, das die Veränderungen am genauesten wiedergab, als auch am luftgetrockneten, nach PAPPENHEIM gefärbten Blutausstrich ausge-

führt. Es konnte folgendes festgestellt werden:

Nativpräparate

1) Nicht bestrahlt: Bei den normalen Erythrozyten fand sich eine starke Neigung zur Bildung von Geldrollenformen. Die Stechapfelformen, die sich von Anfang an im Präparat befanden, nahmen an der Geldrollenbildung nicht teil und standen abseits von den Geldrollen. Im Laufe des Austrocknens gingen die normalen Erythrozyten mehr und mehr in die Stechapfelform über, wobei sich die Geldrollen stark lockerten, aber sich nicht auflösten. Es fanden sich also im unbestrahlten Präparat vornehmlich Normozyten, die zum Teil kleine Randveränderungen aufwiesen, und Stechapfelformen.
2) 6 Minuten bestrahlt: Beim 6 Minuten lang bestrahlten Blut fand sich meistens im wesentlichen der gleiche Befund wie beim nicht bestrahlten. Die Neigung zur Bildung der Geldrollen nahm jedoch ab.
3) 15 bis 18 Minuten bestrahlt: An diesem Präparat war das Fehlen von ausgeprägten Geldrollen auffallend. Es konnten folgende Zellformen beobachtet werden:
   a) Stechapfelformen,
   b) zahlreiche scharf begrenzte Erythrozyten mit kreisrunder Form. Keine Delle nachweisbar, keine Formen im Querschnitt zu sehen. Es handelt sich wahrscheinlich um Sphärozyten. Diese Formen erscheinen im durchscheinenden Licht intensiv grün. Sie sind noch zahlreicher als die Stechapfelformen und gehen über in die
   c) ganz kleinen Erythrozyten, die sich von der vorhergehenden Form nur durch den Durchmesser unterscheiden, der oft weniger als 1/4 des normalen beträgt.
   d) Erythrozyten, die im Vergleich zu b) und c) sehr blaß und etwas groß erscheinen. Der Rand war nicht immer gleichmäßig. Es fand sich eine geringe Poikilozytose. Diese Formen haben fließende Übergänge zu den zackig begrenzten Stechapfelformen. Im Inneren fanden sich kleine, scharf begrenzte Bildungen, wahrscheinlich Vakuolen, wie sie BAGDASAROV schon gefunden und als Folge des Farbstoffverlustes gedeutet hat.
   e) Zahlreiche Zelltrümmer von polymorpher Form.

Ausstrich

1) Nicht bestrahlt: Es wurden folgende Zellformen beobachtet:
   a) normale Erythrozyten,
   b) Stechapfelformen,
   c) Poikilozyten, an Zahl gering, wahrscheinlich durch das Austrocknen bedingt.
2) 18 Minuten bestrahlt: Es war kein normaler Erythrozyt mehr zu finden. Festgestellt werden konnte eine starke Neigung zu Stechapfelformen, kombiniert mit hochgradiger Poikilozytose. Die Erythrozyten zeigten Durchmesser jeden Grades (Anisozytose). Zwischen den stark geschädigten Erythrozyten lagen massenhaft Zelltrümmer. Auch hier konnte besonders gut das Auftreten von scharfbegrenzten Vakuolen beobachtet werden.
   Neben diesen Formen fanden sich außerdem noch Stromaformen, die durch den Verlust des Hämoglobins keine grüne Farbe im durchscheinenden Licht aufwiesen. Sie zeigten unscharfe, blinde Zellgrenzen und erschienen oft nur wie ein Zellschatten.

Beim Vergleich des normalen mit dem stärker bestrahlten Blut im Nativpräparat fiel es auf, daß das bestrahlte Blut vollere und rundere Formen zeigte als das unbestrahlte, das viele Stechapfelformen aufwies. Dieses Phänomen ist wahrscheinlich als prähämolytische Phase zu deuten. Es überwiegen im bestrahlten Präparat die Sphärozyten, die im Nativpräparat den Eindruck erwecken, daß das bestrahlte Blut besser erhalten sei als das unbestrahlte, die aber dann im Trockenpräparat zu den stark zerstörten Formen führen, die das ganze Bild beherrschen.

Die beobachteten Zellformen lassen sich ohne Zwang in das nach den Angaben von SCHÜRCH, WILLENEGGER und KNOLL aufgestellte Schema einordnen. Daraus ergibt sich, daß die Ultravioletttbestrahlung zu den gleichen Schädigungen des Erythrozyten führt wie sie in der alternden Blutkonserve auftreten. Der Grad der Schädigung ist bei der Ultravioletttbestrahlung natürlich viel beträchtlicher als in einer normalen Konserve. Die Schädigung tritt vornehmlich bei längerer Bestrahlungsdauer auf und verläuft über zwei Reihen, einmal über den immer kleiner werden-

den Sphärozyten und dann über die immer kleiner werdende Stechapfelform. Wahrscheinlich wird es in den Anfangsgliedern des Degenerationsschemas Querverbindungen geben. Maßgebend für alle Veränderungen wird stets das Verhältnis zwischen den ein- und austretenden Elektrolyten sein.

Weiße Blutkörperchen wurden nur sehr selten beobachtet. Sie waren stets stark zerstört und daher nicht zu differenzieren. Am besten ließen sich einige Lymphozyten erkennen.

B. Die osmotische Resistenz und Hämolyse.

Bestimmend für den biologischen Wert einer Konserve wird neben dem Blutbild stets der Grad der Hämolyse sein. Ist doch die Hämolyse die wichtigste Veränderung im Blut und bedeutet im Gegensatz zu anderen Veränderungen stets eine große Gefahr für den Patienten.

Unter der osmotischen Resistenz versteht man die Widerstandskraft der Erythrozyten gegen hypotonische Salzlösungen, während die Hämolyse die Folge der Resistenzabnahme als Zeichen hochgradiger Erythrozytenschädigung ist. Hämolyse heißt Blutauflösung. Wir verstehen darunter den Austritt des Hämoglobins aus den roten Blutkörperchen.

Der Grund der Resistenzabnahme ist, wie man in dem Buch von SCHÜRCH, WILLENEGGER und KNOLL über Blutkonservierung und Transfusion von konserviertem Blut nachlesen kann, eine veränderte Zellpermeabilität, die wahrscheinlich eine Folge des Zellstoffwechselverlustes ist. Während sich Hämolyse in hypotonischen Salzlösungen durch die osmotischen Gesetze erklären läßt, fehlt der Hämolyse, die nach längerer Zeit in isotonischen Salzlösungen auftritt, wo jeder osmotische Druckunterschied fehlt, jede Erklärungsmöglichkeit. Wahrscheinlich wird durch den Milieuwechsel und durch den Älterungsvorgang des Erythrozyten ein komplizierter physikalisch-chemischer Vorgang in Gang gesetzt, über den man noch nichts Genaues weiß. Die Zelle kann nur dann Wasser aufnehmen, wenn im Zellinneren ein höherer osmotischer Druck wahrscheinlich auf Grund einer Änderung des Salzgehaltes entsteht. Von frischen Erythrozyten weiß man, daß sie für Kationen undurchlässig sind. Wahrschein-

lich wird die Zellmembran erst für Kalium durchlässig, was eine geringe Schrumpfung des Erythrozyten bei Erhaltung der Resistenz bedeutet. Später tritt eine Durchlässigkeit der Membran für Natrium in Form des Natriumchlorids auf. Durch Natriumchlorid erhöht sich im Erythrozyten der osmotische Druck gegenüber dem Plasma. Nach den osmotischen Gesetzen muß jetzt Wasser in den Erythrozyten eintreten, um den Ausgleich des osmotischen Druckes herbeizuführen. Dadurch vergrößert sich der Erythrozyt immer mehr und nimmt schließlich Kugelgestalt an. MAIZELS und WHITTAKER gelang es, die Erhöhung des Volumens durch Bestimmung des Hämatokritwertes nachzuweisen. Die Durchlässigkeit für Hämoglobin setzt erst bei einem kritischen Zellvolumen ein. „Die Hämolyse hinkt der Resistenzverminderung nach." (KNOTT)

Im einzelnen sind die osmotischen Vorgänge äußerst kompliziert und wenig bekannt. Schon kleinste Mengen des im Plasma gelösten Hämoglobins, etwa 0,02 g%, werden als hämolytischer Saum über den abgesetzten Erythrozyten wahrgenommen. Eine deutliche Rotfärbung tritt bei 0,06 g% ein.

Wenn auch die Erythrozyten als recht stabile Gebilde anzusprechen sind, bleiben doch die Einflüsse, denen sie außerhalb der Blutbahn ausgesetzt sind, nicht ohne Wirkung auf sie. Es ist bekannt, daß Schütteln, Waschen, Zentrifugieren, chemische Zusätze, besonders aber die Wärme die Widerstandskraft der Erythrozyten stark herabsetzen. Das muß auch bei der biologisch keineswegs indifferenten Ultraviolettbestrahlung der Fall sein.

Nach KOEPPE sollen die Ultraviolettstrahlen ihren Angriffspunkt in der Lipoidhülle der Erythrozyten haben. KOEPPE folgert daraus, daß die Strahlenhämolyse den gleichen Mechanismus wie die anderen Hämolysen hat. Sie verläuft nur langsamer. Die Ultraviolettstrahlen sollen katalytisch, nicht physikalisch-chemisch wirken.

Bei den folgenden Versuchen wurde der Schädigungsgrad des durch Ultraviolettbestrahlung beschädigten Blutes an der osmotischen Resistenz, der Widerstandskraft der Erythrozyten gegen hypotonische Salzlösungen gemessen. Es wurde die übliche Labormethode der Resistenzbestimmung in Form einer arithmetisch abgestuften Verdünnungsreihe angewandt. Die Differenz der einzelnen Verbindungen betrug 0,04 % NaCl in einer Anwendungsbreite von 0,28 bis 0,88 % NaCl. In jede Verdünnung wurde vorsichtig mit der Pipette ein Tropfen des bestrahlten Blutes gebracht. Als Werte wurden jeweils die Minimumresistenz als obere und die Maximumresistenz als untere Grenze abgelesen. Die Minimumresistenz ist der Punkt, an dem die schwächsten Erythrozyten beginnen hämolytisch zu werden. Da kleinste Mengen von gelöstem Hämoglobin im Plasma sichtbar werden, findet man bei diesem Wert eine blaßrot gefärbte Lösung. Die blaßrote Farbe verdichtet sich über der Erythrozytenschicht zu einem roten hämolytischen Saum.

Unter Maximumresistenz versteht man den Punkt, an dem die kräftigsten Erythrozyten gerade noch den osmotischen Kräften Widerstand leisten können. Die Lösung ist dann bereits lackfarben gefärbt. Am Boden des Reagenzglases findet man jedoch noch eine kleine Erythrozytenschicht, die beim Aufschütteln die Lösung trübt. Die nächste Verdünnungsstufe bringt dann die Totalhämolyse des Blutes, bei denen selbst die widerstandsfähigsten Erythrozyten der von Stufe zu Stufe gewachsenen osmotischen Kraft nicht mehr standhalten können. Die Lösung bleibt dann auch beim Aufschütteln klar.

Die Minimumresistenz ist ein viel feineres Reagens für die Schädigung der Erythrozyten als die Maximumresistenz.

Es wurden im ganzen 12 Konserven untersucht, davon 4 im Alter von 1 Woche, 4 im Alter von 2 Wochen, 2 im Alter von 3 Wochen und 2 im Alter von 4 Wochen. Die Bestrahlungsdauer betrug bei der ersten Konserve 1, 5, 3, 6 und 9 Minuten, wurde aber, weil bei 9 Minuten Bestrahlungs-

zeit eine Totalhämolyse noch nicht eintrat, auf 12, 15 und 18 Minuten erhöht.

Um die sich entwickelnde Wärme als Fehlerquelle auszuschalten, wurde alle 6 Minuten die Bestrahlung durch eine Pause von 6 Minuten, in der die Spirale durch Auflegen eines feuchten Lappens gekühlt wurde, unterbrochen. Da SCHÜRCH, WILLENEGGER und KNOLL vor Spontanhämolyse warnen, die bei Resistenzprüfungen mit ungewaschenen Erythrozyten auftreten soll, wurden bei 6 Konserven neben der Resistenzbestimmung mit ungewaschenen Erythrozyten auch Bestimmungen mit gewaschenen ausgeführt. Das Waschen der Erythrozyten erfolgte durch mehrmaliges vorsichtiges Zentrifugieren und Abpipettieren der Kochsalzlösung. Eine Spontanhämolyse konnte nur in einem Falle beobachtet werden.

Die Untersuchungen führten zu folgenden Ergebnissen:

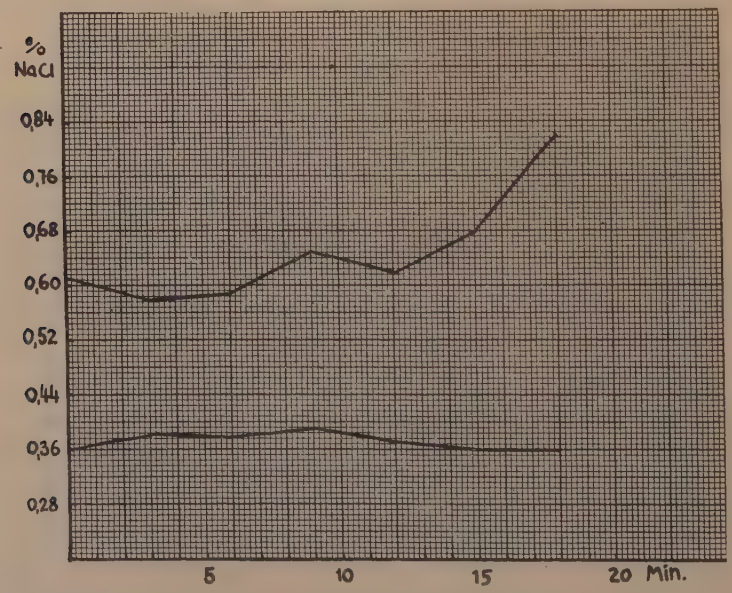


Abb. 1 Kurve sämtlicher Mittelwerte der Minimum- und Maximumresistenz.

1) Die Kurve sämtlicher Mittelwerte der Minimum- und Maximumresistenz (Abb. 1) zeigt ein deutliches Ansteigen der Minimumresistenzkurve, also eine Abnahme der Resistenz bei Bestrahlungen über 12 Minuten, während die Maximumresistenz annähernd konstant bleibt. Anfangs tritt eine geringe Senkung der Kurve, also eine Erhöhung der Resistenz auf, was mit den Angaben von BUNGENBERG DE JONG übereinstimmt, der nach Ultravioletttbestrahlung ein geringes Wachsen der Widerstandskraft der Erythrozyten gegen hypotonische Salzlösung beschrieb. Wenn man die geringen Schwankungen vernachlässigt, kann man sagen, daß die Minimumresistenzkurve bis zu einer 12 Minuten langen Bestrahlungsdauer annähernd konstant bleibt, dann aber schnell ansteigt. Bei einer Bestrahlung von 18 Minuten erreichte die Minimumresistenz einen Wert von 0,8 % NaCl. Die Widerstandskraft der Erythrozyten gegen hypotonische Salzlösungen war also nur noch sehr gering. Bei einem Wert von 0,9 % NaCl hätte sie den Wert 0 erreicht. Die Hämolyse wäre bereits im isotonischen physiologischen Milieu eingetreten. Der biologische Wert des Konservenblutes nach Ultravioletttbestrahlung, gemessen an der osmotischen Resistenz, würde nach einer Bestrahlungsdauer von länger als 12 Minuten stärker in Mitleidenschaft gezogen werden.

2) Die zweite Kurve (Abb. 2) zeigt den Vergleich zwischen Konserven von ein- und zweiwöchigem Alter, und denen, die drei und vier Wochen alt sind. Wie zu erwarten, zeigte sich das jüngere Blut gegen Ultravioletttbestrahlung deutlich widerstandsfähiger als das ältere. Jedoch sind die Unterschiede nicht sehr erheblich.

3) H. SHITA und T. NAKASHIMA haben festgestellt, daß die bakterizide Kraft des Blutes 3 bis 6 Stunden nach der Bestrahlung ihren Höhepunkt erreicht. Um vor allen Dingen noch die Wirkung der induzierten Sekundärstrahlung abzuwarten, wurde bei 7 Konserven die Resistenz zunächst sofort und dann 1, 3 und 6 Stunden nach der Bestrahlung, später sofort und 4 Stunden nach der Bestrahlung untersucht. Das Blut, das 4 Stunden nach der Bestrahlung untersucht wurde, zeigt im Vergleich zu dem sofort untersuchten eine geringe Resistenzabnahme. Es ist mehr geschädigt als das andere. Wahrscheinlich ist

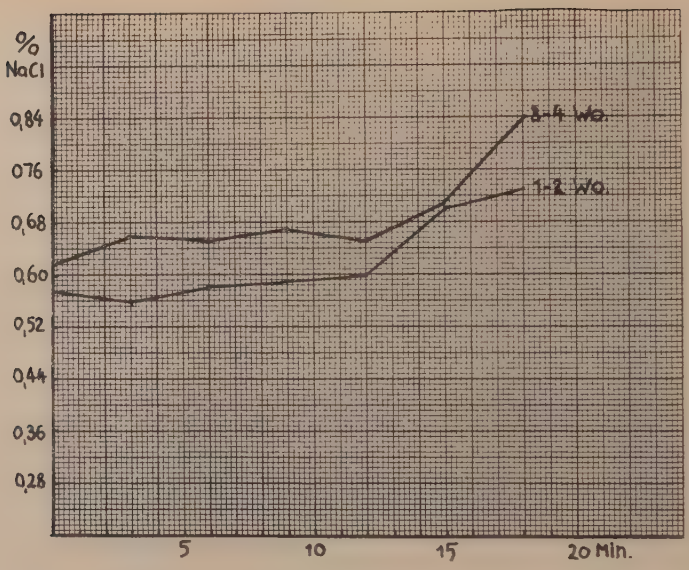


Abb. 2 Vergleich zwischen 1 - 2 und 3 - 4 Wochen altem Blut.

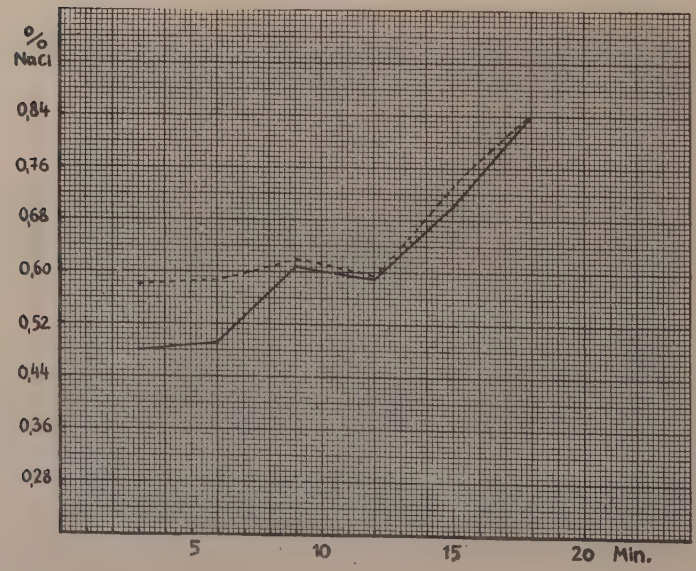


Abb. 3 Vergleich der Resistenzproben, die sofort und nach 4 Stunden angesetzt wurden.

——— sofort
- - - - - - - nach 4 Stunden

der Wirkungsmechanismus der Ultraviolettstrahlen auf die Erythrozyten sofort nach der Bestrahlung noch nicht abgeschlossen.

4) Der Vergleich zwischen gewaschenen und ungewaschenen Erythrozyten zeigt eine deutliche Resistenzerhöhung der gewaschenen. Das hängt wohl damit zusammen, daß die stark beschädigten Erythrozyten beim Waschen hämolysieren, so daß diese dann bei der Resistenzbestimmung die Ergebnisse nicht belasten. Auf eine Wirkung der Ultraviolettbestrahlung ist diese Differenz wahrscheinlich nicht zurückzuführen.

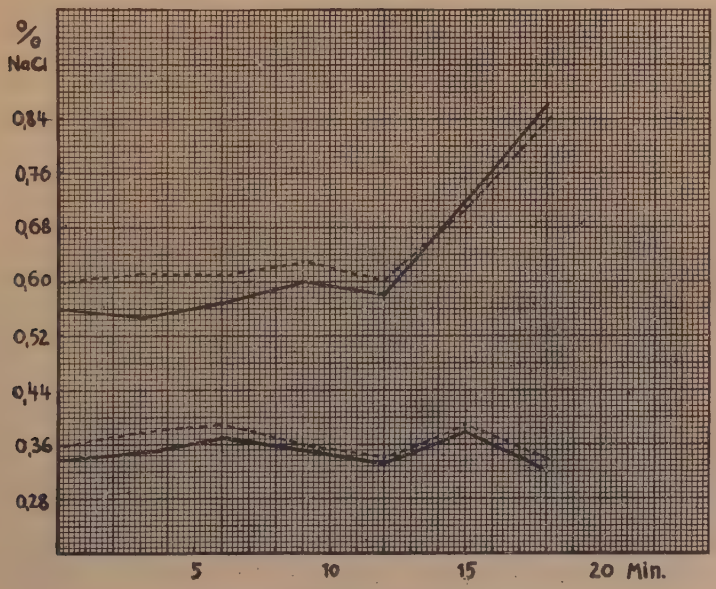


Abb. 4 Vergleich der Resistenzbestimmungen mit gewaschenen und nicht gewaschenen Erythrozyten.
Minimum- und Maximumresistenz.

——— gewaschen
- - - - - - - nicht gewaschen

C. Der Kaliumspiegel im Plasma und die Erythrozytenzahl.

Der Austritt des Kaliums ist das erste Zeichen der beginnenden Degeneration des Erythrozyten. Bei Schädigungen des Blutes muß infolgedessen der Kaliumspiegel im Plasma erhöht sein, was in den folgenden Versuchen untersucht werden soll. Das Kalium tritt bereits vor der Zerstörung des Erythrozyten aus. Bei stärkerer Schädigung wird schließlich der ganze Erythrozyt zerstört. Es tritt Hämolyse ein, die Zahl der Erythrozyten nimmt ab.

Die Bestimmung des Kaliumspiegels, der normal etwa 20 mg% beträgt, erfolgte nach der Methode von RAPPAPORT, die darauf beruht, das ins Plasma übergetretene Kalium als Kaliumkobaltnitrit zu fällen, die Nitritgruppe mit Cerisulfat zu oxydieren und den Überschuß jodometrisch zu bestimmen. Die Technik ist schwierig und verlangt sauberes Arbeiten und einwandfreie Reagentien. Von zwei Bestimmungen wurde jeweils der Mittelwert benutzt.

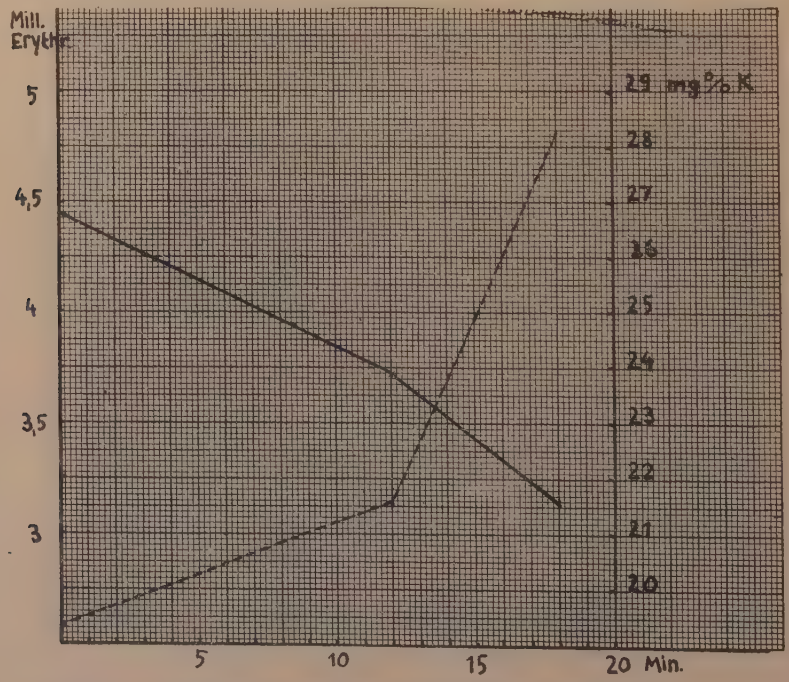


Abb. 5 Kaliumspiegel und Erythrozytenzahl
Kalium, Erythrozyten.

Bei den Untersuchungen über die osmotische Resistenz wurde festgestellt, daß Bestrahlungen, die länger als 12 Minuten dauern, die Resistenz stark herabsetzen und das Blut erheblich schädigen. Nach einer Bestrahlung von 18 Minuten trat eine weitgehende Hämolyse ein. Diese experimentell gefundenen Werte wurden hier benutzt und das 12 und 18 Minuten lang bestrahlte Blut mit dem nicht bestrahlten verglichen. Es konnte folgendes festgestellt werden (Abb.5): Mit steigender Bestrahlungsdauer reichert sich das aus den Erythrozyten ausgetretene Kalium im Plasma immer mehr an. Bestrahlt man länger als 12 Minuten, so springt der Kaliumspiegel im Plasma schnell auf hohe Werte. Die Erythrozytenschädigung nimmt immer mehr zu. Die Zahl der Erythrozyten nimmt bei steigender Bestrahlungsdauer stetig ab. Aus den Mittelwerten läßt sich eine geringe Beschleunigung der Erythrozytenabnahme bei Bestrahlungen, die länger als 12 Minuten dauern, ablesen. 1 - 2 wöchiges Blut zeigt sich deutlich resistenter als 3 - 4 wöchiges (Abb. 6).

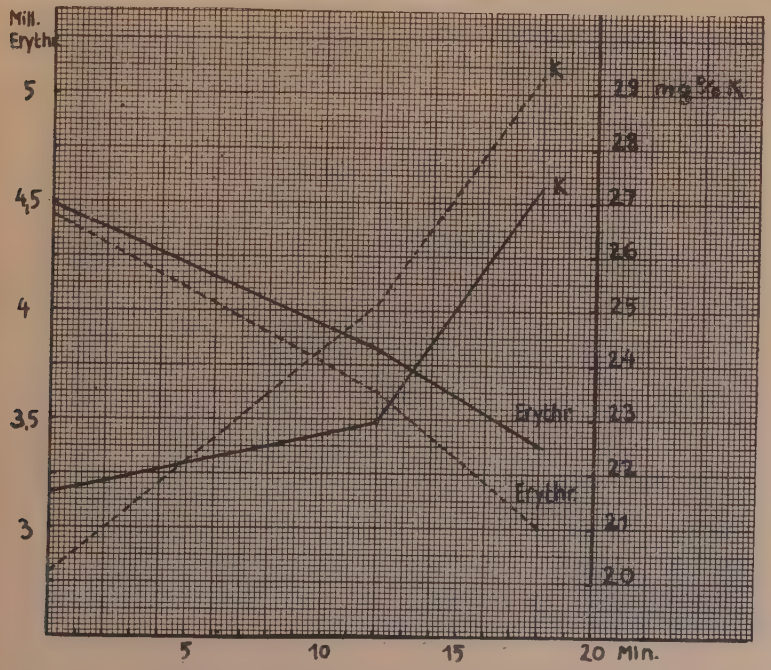


Abb. 6 Vergleich zwischen 1 - 2 wöchigem und 3 - 4 wöchigem Blut.
——— 1 - 2 Wochen
- - - - - - - - 3 - 4 Wochen

Zusammenfassung

Es wurden 12 Konserven mit einer Aufbewahrungsdauer von 1, 2, 3 und 4 Wochen 1, 5, 3, 6, 9, 12, 15 und 18 Minuten lang bestrahlt und im unbestrahlten und bestrahlten Blut das Blutbild, die osmotische Resistenz, der Kaliumspiegel im Plasma und die Erythrozytenzahl untersucht.

Die Degeneration der Erythrozyten durch die Schädigung mit Ultraviolett erfolgt auf demselben Wege, wie sie SCHÜRCH, WILLENEGGER und KNOLL in ihrem Buch über Blutkonservierung und Transfusion von konserviertem Blut festgestellt haben, nämlich über den immer kleiner werdenden Sphärozyten und die gleichfalls immer kleiner werdende Stechapfelform.

Es wurde weiterhin festgestellt, daß unter den beschriebenen Bestrahlungsbedingungen die osmotische Resistenz und damit der biologische Wert des Konservenblutes bis zu einer Bestrahlungsdauer von 12 Minuten nahezu konstant blieb, bei Bestrahlungen über 12 Minuten aber erheblich abnahm. Nach einer Bestrahlungsdauer von 18 Minuten erreichte die Minimumresistenz einen Wert von 0,8 % NaCl, die Widerstandskraft der Erythrozyten gegen hypotonische Salzlösungen war also nur noch sehr gering. Blut mit kurzer Aufbewahrungsdauer erwies sich resistenter als alte Blutkonserven.

Die Untersuchungen, die 4 Stunden nach der Bestrahlung gemacht werden, zeigten deutlich, daß die Wirkung der Ultravioletttstrahlen kurz nach der Bestrahlung wahrscheinlich durch das Auftreten einer induzierten Sekundärstrahlung noch nicht abgeschlossen ist.

Als erstes Zeichen der Erythrozytenschädigung stieg der Kaliumspiegel im Blutplasma an und erreichte bei Bestrahlungen, die länger als 12 Minuten dauerten, hohe Werte.

Als Zeichen der fortschreitenden Hämolyse sank die Zahl der Erythrozyten bei steigender Bestrahlungsdauer stetig ab.

Am Schluss dieser Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Priv.Dozenten Dr.F. H o l l e für die Überlassung des Themas zu danken.

Dem Direktor der Chirurgischen Universitäts-Klinik, Herrn Professor Dr.W.W a c h s m u t h danke ich für die freundliche Übernahme des Korreferates.

Vielen Dank schulde ich auch Herrn Dr.Lutzeyer für die für die Abfassung der Arbeit nützlichen Hinweise.

Literaturverzeichnis

Bungenberg de Jong, W.H.J. „Das Blut bei Bestrahlung mit künstlicher Höhensonne."
Münchn. Med. Wochenschrift 1930, II, 1924
(Nederlandsch Tijdschrift voor Genuskunde, 1930 H. 25)

Filatow, A., Kasumow H. „Experimentelle und klinische Beobachtungen über Transfusion ultraviolettbestrahlten Blutes bei Anämien."
Zentralblatt f. Chirurgie 1938, II , 1831
(Vestn. Chir. Grekowa 49, 163, 1937)

Giaume, C. „Antirachitische Wirkung von ultraviolettbestrahlten Blutes bei Anämie."
Münchn. Med. Wochenschrift 1929, I, 938
(Pedistria 1929, 3, 119)

Grümbke, W., Frommelt H. „Einfluß der ultravioletten Strahlen auf die Zahl der Reticulozyten im Blut."
Münchn. Med. Wochenschrift 1939, I, 865
(Klin. Wochenschrift 1939, Nr. 13)

Hancock, V.K. „Treatment of blood stream infections with Hemo-Irradiator."
Wissensch. Nachrichten der Quarzlampenges.m.b.H. Hanau/Main Heft 1
(Amer. J. Surg. Bd. 58 1942 S. 336 - 344)

Hanock, Tate Mason siehe Knott und Edblom

Koeppe, H. „Einfluß der ultravioletten Strahlen auf rote Blutkörperchen."
Münchn. Med. Wochenschrift 1926, II, 1814
(Archiv f. Kinderheilkunde 79. Band)

Knott, E.K., Edblom „Development of ultraviolet blood irradiation."
(Die Entwicklung der UV.-Bestrahlung des Blutes)
Zentralorgan für die gesamte Chirurgie 1950, 116, S. 298
(Amer. J. Surg. 76, 165 - 171, 1948)

Kuhlenkampff, D. „Zur Behandlung mit bestrahltem Blut."
Zentralblatt für Chirurgie 1938, I, 270
(Hippokrates 1936, Nr. 44)

Leitner Münchn. Med. Wochenschrift 1936, II, 1862

Miley, G. „UV blood irradiation therapy in acute poliomyelitis."
Arch. physic. Therapy Bd. 25 1944 (Wissensch. Nachrichten der Quarzlampenges.m.b.H. Hanau/Main Heft 1

Pranter, V. „Über Bestrahlungen strömenden Blutes mit Quarzlicht."
Wiener Klinische Wochenschrift 1941, 845

Przemeck, H. „U.V.-Bestrahlungen des strömenden Blutes bei septischen Krankheitsbildern."
Zentralblatt f. Chirurgie 1948, III, 225

Schürch, Willenegger, Knoll „Blutkonservierung und Transfusion von konserviertem Blut."
Springer-Verlag, Wien, 1942

Shita, H., Nakaschima Zentralorgan für Chirurgie Bd. 100, 1941
Mitt. med. Akad. Kioto 29, 351 - 356 deutsche Zusammenfassung 617 (1940)

Seyderhelm, R. „Über einen durch ultraviolette Bestrahlung aktivierbaren, antianämisch wirkenden Stoff im Blute."
Münchn. Med. Wochenschrift 1932, I, 767

Stolfi, Provenzale Zentralorgan für Chirurgie Bd. 101, 1941
Boll. Soc. ital. Biol. sper 15, 1940

Wosyka, H. „Untersuchungen über das Verhalten des retikuloendothelialen Systems nach Bestrahlungen des Operationsfeldes mit U.V.-Licht."
Münchn. Med. Wochenschrift 1937, I, 351.

Lebenslauf

Am 12. Mai 1928 wurde ich als Sohn des Landesoberinspektors Karl Völkel und seiner Ehefrau Agnes, geb. Dzierzon, in Ratibor OS geboren.

Von meinem sechsten Lebensjahr an besuchte ich die Volksschule bis zu meiner Aufnahme in die Oberschule im Jahre 1938. 1945 mußte ich wegen der Kriegsereignisse meine Schulausbildung unterbrechen, konnte sie aber im Februar 1946 in Rinteln a.d. Weser wieder aufnehmen. Im März 1947 legte ich dort meine Reifeprüfung ab.

Mein Studium der Medizin begann ich im Wintersemester 1948/49 in Würzburg. Das Physikum absolvierte ich nach dem 5. Semester. Im Sommersemester 1954 bestand ich an der Würzburger Universität das Medizinische Staatsexamen.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Karl-Heinz Völkel

RUDOLF BAEHR DRUCK- UND WERBETECHNIK
WÜRZBURG KOLOFFSTRASSE 5